根圈土壤微生物與作物生長交感研究之探討

農試所作物組 賴明信 李長沛 高岱君

一、前言

作物產量與品質的決定因子可以區分成地上部與地下部兩大因子。地上部因子包含作物品種、管理方法及生育氣候環境有關，地下部包含土壤種類、營養及土壤生物有關。藉由品種及栽培技術改進，產量與品質直接而有效的提高，例如具雜種優勢品種的利用，以及肥料及化學防治資材的施用。面對氣候變遷嚴重影響作物生育的環境，品種與栽種技術的研發，越來越不足因應的情況，誘發作物研發人員重新思考生產體系，發現利用自然環境尋求作物與環境平衡的生產體系，才是可長可久之道。

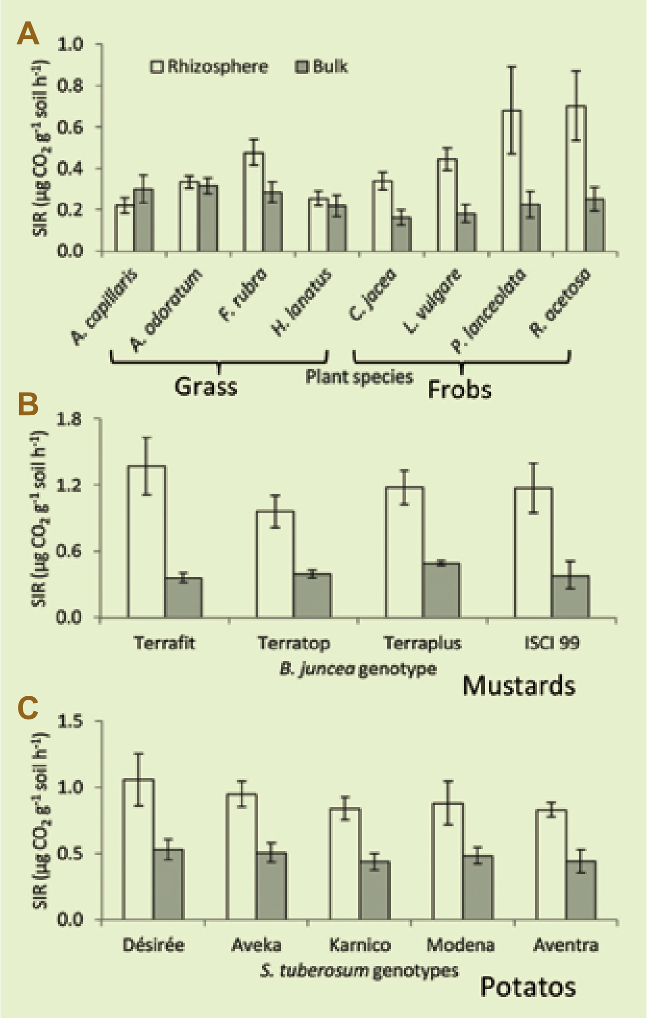
以107年度第一期作的水稻生產為例，農糧署表示，該年平均產量較往年提高約22%，大豐收。探討增產原因，作物專家認為是因為氣候穩定、日照充足，作物的光合能力獲得強化，作物的生產潛能，得以充分發揮；加上沒有梅雨及病害干擾生產所致。土壤及灌溉專家卻認為，因為氣候穩定乾燥，在適當的灌溉下，根圈附近中的土壤微生物發揮了作用，促進作物根部的吸收功能，致使根部對養分的利用力大量提升，導致增產。背景不同觀點差異，沒有值得訝異，只是，對水稻作物而言，地上部的環境因子是超乎我們能夠控制的，相形之下，地下部因子可能比較能夠掌握。因此回歸到最原始的土壤組成，了解土壤中的生物相，以及其與作物的交感，並善加利用，作物將更能適應不斷變遷的環境。其中微生物是所有生物相中族群最大、物種最豐富且生命週期最短的一群，許多的研究報告顯示，土壤微生物多樣性在作物生產中扮演了重要的角色，例如分解有機質、固氮、溶磷、溶鉀及微量元素的吸收(van der Heijden *et al*. 2008；Bardgett *et al*. 2016； Saleem *et al*.2018)，這些作用皆與作物的產量與品質等生產息息相關。

作　　者：賴明信研究員
連絡電話：04-23317103

二、前人研究方法

以往，許多的專家利用微生物肥料來提高或穩定作物的產量及品質。但，添加單一有益微生物在農田中的應用，一直無法獲得很理想的成果，主要原因

在環境因素及作物種類與土壤中微生物間的交感，會使添加的有益微生物無法充分發揮效果或是死亡。為了釐清土壤中微生物與作物、生育環境間的交感關係，美國植物病理學會(The American Phytopathological Society)於2015年提出Phytobiomes的研究方法，有別於以往大多研究單一變因、單一作用為主軸，Phytobiomes利用'omics technologies總體學的概念，研究植物(包含植物、植物的環境、相關微生物和大型生物)、生物(包含微生物、動物和其他植體)和農業生態環境(包含土壤、空氣和氣候)之間的交互作用。希望能找出低成本及高環境變遷承載的管理系統，並達到精準農業(Precision agriculture)的目標。



圖一、不同物種間之土壤微生物多樣性(A)； 不同基因型之土壤微生物多樣性(B、C)(引用自Brolsma et al. 2017)。

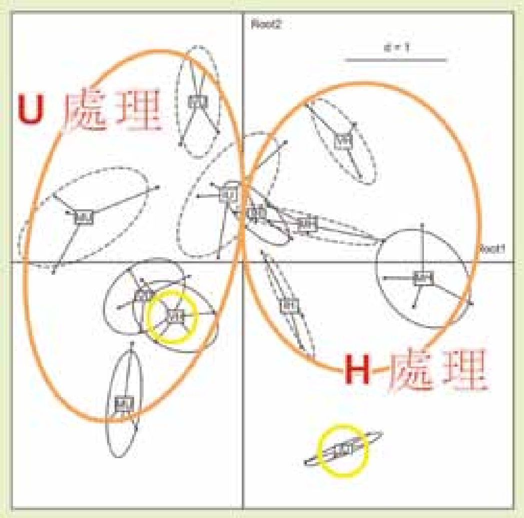
三、根圈(Rhizosphere)土壤微生物與作物生長交感之研究

根圈是作物與土壤微生物間相互作用頻繁的區域，根的分泌物(Exudates)扮演了重要的角色。不同種類的作物，所需要的營養成分都有所不同，其根部也會釋放出不同的分泌物，吸引所需的微生物。所以根的分泌物會影響微生物之組成，增加微生物的活動，並增加微生物對營養成分的吸收作用(Raaijmakers *et al*., 2009)。研究報告顯示作物的種類、品種或基因型都有可能影響根系分泌作用(Berg and Smalla, 2009)。 Brolsma *et al*(2017)觀察比較不同物種間之土壤微生物多樣性及不同基因型之土壤微生物多樣性，結果如圖一A。為比較不同物種間(Grass和Frobs)及不同品種間(Grass四種品種和Frobs四種品種)的土壤微生物多樣性，觀察發現，不同物種間之根圈與根圈外土壤之土壤微生物具有明顯的多樣性，而相同物種不同品種間之根圈及根圈外土壤的微生物多樣性方面，屬

於Grass物種的品種間無顯著差異存在，而Frobs的品種間存在顯著差異；B及C比較不同基因型的芥菜與馬鈴薯的土壤微生物多樣性，觀察發現，兩種作物(芥菜及馬鈴薯)的根圈與根圈外的土壤微生物都存在顯著多樣性，但相同品種的不同基因型間土壤微生物無顯著多樣性差異存在，但很多的研究論文都顯示，品種或基因型的根圈及根圈外的土壤微生物存在顯著多樣性差異(Aira *et al*. 2010；Shenton *et al*. 2016)。

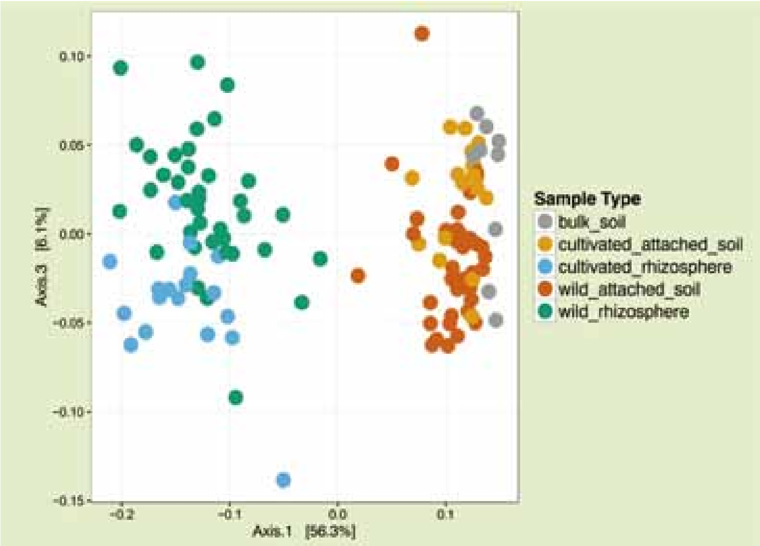
玉米為異花授粉的作物，具有雜種優勢，雜交F_1世代的生產表現，明顯優於親代表現，需要透過親代雜交來生產種子，維持良好的品質與產量。學者Aira *et al*(2010)設定四種不同變因，利用磷脂脂肪酸(PLFA, phospholipid fatty acid)分析，呈現根圈土壤微生物族群變異程度。磷脂大量存在於生物的細胞質中，在細胞死亡之後，會被快速分解，分析磷脂的碳鏈長度、取代基及雙鍵位置，可判別磷脂的種類，某些細胞中含有特殊磷脂，可作為族群分類的依據。圖二為玉米不同胚乳基因型(su1和sh2)、不同遺傳背景(1453x101t和P39xC23)、不同施肥量(高和低)和不同肥料種類(無機肥、動物糞肥和蚯蚓糞肥)等處理，磷脂脂肪酸變異程度之比較。由圖二發現，肥料種類(無機肥(I)、動物糞肥(M)和蚯蚓糞肥(V))、基因型(su1(U)、sh2(H))和施肥量(高(虛線)、低(實線))，在不同磷脂脂肪酸的變異程度(Root1 31%和Root2 29%)微生物族群有明顯的差異。在磷脂脂肪酸的變異程度29%下，除了高施肥量下的VH和IU處理不一致外，玉米的兩種基因型之土壤根圈微生物族群明顯分開成不同兩群，顯示玉米基因型對土壤根圈微生物族群確實有明顯影響。

野生稻在抗病蟲害及抗環境因子變遷的能力出色，許多水稻育種專家皆藉由將栽培稻與野生稻雜交，孕育出新品種，來增加栽培稻的抗病蟲害及應對環境因子變遷的能力；但，經過幾代回交之後，原本野生稻抗病蟲害及抗環境因子變遷的能力卻會遞減，甚至逐漸消失。Shenton *et al*(2016)為了瞭解野生稻抗病蟲害及抗環境因子變遷能力的消失，除了遺傳基因的流失外，是否與土壤中微生物多樣性的變化有關；以19種*Oryza*稻屬基因型(13種野生稻(wild rice)與6種栽培稻(cultivated rice))為材料，調查根圈(rhizosphere soil)、寬鬆附著(attached soil)和根圈外(bulk soil)的土壤微生物多樣性。利用聚合酶連鎖反應

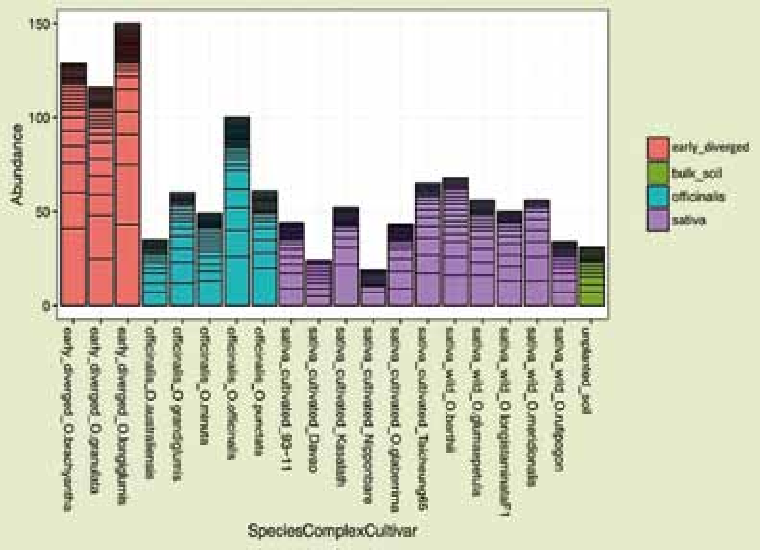


圖二、PLFA (phospholipid fatty acid)分析，不同處理及不同磷脂脂肪酸的變異程度下土壤根圈微生物族群的相似度矩陣(歧異度)(引用自Aira et al. 2010)。

(PCR，Polymerase Chain Reaction)放大微生物的DNA，以次世代定序(NGS，Next Generation Sequencing)進行16s rDNA的定序，對應操作分類單元(OTU，Operational Taxonomic Unit)資料庫，再以主座標分析(PCoA，principal coordinate analysis)呈現樣本間微生物多樣性的差異，結果如圖三所示。比較參試材料的根圈與根圈寬鬆附著土壤之微生物族群豐富程度，兩者明顯具有差異存在；比較野生稻與栽培稻的土壤微生物，雖然在根圈寬鬆附著土壤的微生物族群豐富程度，兩者則沒有明顯差異存在，但在根圈土壤微生物族群的豐富程度野生稻明顯大於栽培稻。



圖三、利用PCoA來顯示根系外土壤、寬鬆附著於根之土壤與根圈土壤、野生稻與栽培稻間之微生物族群差異(引用自Shenton *et al.* 2016)。



圖四、不同水稻的甲基單孢菌屬豐富度(引用自Shenton *et al.* 2016)。

氣候變遷是現今最重要的研究議題之一，暖化效應與影響更是重中之重，如何降低溫室氣體產生，減低溫室效應影響，一直是努力追求的目標。甲烷是主要的溫室氣體之一，且其吸熱存效率是二氧化碳的20倍以上。水稻的生長期需灌水，使土壤長期處在無氧的狀態下生成許多甲烷，甲烷氧化菌(Methanotrophs)可在根圈土壤中，將甲烷氧化成二氧化碳，降低甲烷的排放，減緩溫室效應。Shenton et al(2016)比較不同種水稻的根圈土壤微生物族群豐富度，結果如圖四所示；圖之橫軸為不同種水稻，縱軸為根圈土壤之甲基單孢

菌屬(Methylomonas)的豐富度，甲基單孢菌為甲烷氧化菌的一屬，由圖四發現早分化(early-diverged)的*O. brachyantha*, *O. longiglumis*和 *O. granulata*之甲基單孢菌豐富度明顯比其他種水稻高，顯示早分化的水稻物種之根圈中，甲烷氧化菌明顯較高。此發現提供降低水稻栽培過程中溫室氣體釋放問題的方向。

四、結語

根圈微生物在作物根吸收養分過程中，扮演了重要的角色。近年來在許多學者的研究中，作物的基因對根系分泌作用有影響，若能了解作物品種與土壤微生物族群間的關係，可以更有效率的方法來促進作物吸收養分之能力，進而達到增加產量及提升品質的效果；同時得知作物對抗病蟲害及環境變遷因子的機制，解決現有病蟲害的問題，並預防環境變遷所帶來的衝擊。

五、參考文獻

Aira, M., Gomez-Brandon, M., Lazcano, C., Baath, C., and Dominguez, J. (2010) Plant genotype strong modifies the structure and growth of maize rhizosphere microbial communities. Soil Biology & Biochemistry. 42:2276-2281.

Bardgett, R. D., Mommer, L., and De Vries, F. T. (2016) Going underground: root traits as drivers of ecosystem processes. Trends Ecol. 29:692-699.

Berg, G., and Smalla, K. (2009) Plant species and soil type cooperatively shape the structure and function of microbial communities in the rhizosphere. FEMS Microbiol Ecol. 68:1–13.

Brolsma, K. M., Vonk, J. A., Mommer, L., van Ruijven, J., Hoffland, E., and de Goede, R. G.M. (2017) Microbial catabolic diversity in and beyond the rhizosphere of plant species and plant genotypes. Pedobiologia. 61:43–49.

Raaijmakers, J. M., Paulitz, T. C., Steinberg, C., Alabouvette, C., and Moënne-Loccoz, Y. (2009) The rhizosphere: a playground and battlefield for soilborne pathogens and beneficial microorganisms. Plant Soil. 321:341–361.

Saleem, M., Law, A. D., Sahib, M. R., Pervaiz, Z. H., and Zhang, Q.(2018) Impact of root system architecture on rhizosphere and root microbiome. Rhizosphere. 6:47–51.

Shenton, M., Iwamoto, C., Kurata, N., and Ikeo, K. (2016) Effect of wild and cultivated rice genotypes on rhizosphere bacterial community composition. Rice. 9:42.

van der Heijden, M. G. A., Bardgett, R. D., and van Straalen, N. M. (2008) The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystem. Ecology Letters. 11: 296–310

Young, C. A., and Kinkel, L. K.(2018) A year of phytobiomes. Phytobiomes. 2:53-54.